

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2000-336042

(P2000-336042A)

(43)公開日 平成12年12月5日 (2000.12.5)

(51)Int.Cl.⁷

A 61 K 45/00

A 61 P 27/06

43/00

類別記号

1 1 1

F 1

A 61 K 45/00

A 61 P 27/06

43/00

アート (参考)

4 C 0 8 4

1 1 1

審査請求 未請求 請求項の数 1 O.L. (全 4 頁)

(21)出願番号 特願2000-86446(P2000-86446)

(22)出願日 平成12年3月27日 (2000.3.27)

(31)優先権主張番号 特願平11-81645

(32)優先日 平成11年3月25日 (1999.3.25)

(33)優先権主張国 日本 (J P)

(71)出願人 000177634

参天製薬株式会社

大阪府大阪市東淀川区下新庄3丁目9番19号

(72)発明者 中田 勝彦

奈良県生駒市高山町8918番-16 参天製薬株式会社奈良R Dセンター内

(72)発明者 景山 正明

奈良県生駒市高山町8918番-16 参天製薬株式会社奈良R Dセンター内

(74)代理人 100060874

弁理士 岸木 瑛之助 (外4名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 眼圧下降剤

(57)【要約】

【課題】 R O C K 阻害作用を有する化合物の眼科領域における新規用途を開発する。

【解決手段】 本発明は、R O C K 阻害作用を有する化合物を有効成分とする眼圧下降剤を提供するものである。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ROCK阻害作用を有する化合物を有効成分とする眼圧下降低剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は ROCK阻害作用を有する化合物を有効成分とする眼圧下降低剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 緑内障は種々の要因により眼圧が上昇し、失明に至る危険性のある難治性眼疾患であり、種々の治療方法について研究がなされている。

【0003】一方、最近、低分子量GTP結合蛋白であるRhoが生理性質として注目され、その機能について研究された結果、Rhoは種々の細胞膜受容体からシグナルを受けて活性化され、活性化したRhoはアクトミオシンを介して平滑筋収縮、細胞運動、細胞接着、細胞の形態変化、細胞増殖などの多彩な細胞現象の分子スイッチとして機能していることが明らかとなつた。

【0004】 ROCK (Rho-associated coiled-coil forming protein kinase) は、この活性化したRhoが結合するセリン／スレオニンキナーゼとして同定されたものであり、Rhoの下流で機能し、様々な基質をリン酸化することにより、ストレスフィラーバーや接着斑の形成、平滑筋収縮、神経軸索の退縮など多彩な生理機能を制御することが報告されている (細胞工学, 17, 1844-1 855 (1998))。このROCKを阻害する薬物についての研究も行われ、ROCK阻害剤が、Rhoが関与する疾患や現象、例えば、高血圧症、狭心症、脳血管破裂、喘息、末梢循環障害、早産、動脈硬化症、癌、炎症、免疫疾患、ADIS、受精および受精卵の着床、骨粗鬆症、網膜症、脳機能障害、細菌の消化管感染に有効な予防および/または治療剤として期待されることが、WO 98/06433に開示されている。

【0005】しかしながら、ROCKと眼疾患、特に、緑内障との関係についての報告はない。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】 上記のように、ROCKと眼疾患の関係は、未だ詳細には解明されておらず、ROCKの眼科領域における研究は非常に興味ある課題である。

【0007】

【課題を解決するための手段】 そこで、本発明者はROCKと眼圧との関係について篠山研究を行ったところ、ROCKを阻害すると眼圧が下落することを見出した。すなわち、ROCK阻害作用を有する化合物が、眼圧を下落させ、緑内障や高眼圧症などの眼圧上昇を伴う眼疾患の治療剤として有用であることを見出した。

【0008】

【発明の実施の形態】 本発明は、ROCK阻害作用を有する化合物を有効成分とする眼圧下降低剤に関するものである。

【0009】 本発明のROCKとは、Rhoの活性化に伴い活性化されるセリン／スレオニンキナーゼを意味する。

【0010】 本発明におけるROCK阻害作用を有する化合物としては、ビニルベンゼン誘導体、桂皮酸誘導体、WO 98/06433に開示されている化合物など

があり、特に化学構造上の制限はないが、具体例としてはエタクリン酸、4-[2-(2,3,4,5,6-ペントフルオロフェニル)アクリロイル]桂皮酸、(+)-トランス-4-(1-アミノエチル)-4-(4-ビリジルカルバモイル)シクロヘキサンなどが挙げられる。

【0011】 本発明の効果は、後述の薬理試験の項で詳細に説明するが、まず種々の化学構造を有する化合物についてROCK阻害作用の有無を調べ、次いで、ROCK阻害作用を示した化合物を正常日本白色ウサギの前房20 内に投与したところ、これらのROCK阻害作用を有する化合物が眼圧下降低効果を示すことを見出した。

【0012】 本発明は、ROCK阻害作用を有する化合物が化学構造とは関係なく眼圧下降低効果を示すことを見出したところに特徴があるもので、眼圧下降低効果の強弱は本発明の有用性に影響を与えるものではない。

【0013】 この試験結果は、ROCK阻害作用を有する化合物が、眼圧の上昇に伴う眼疾患の治療、特に、緑内障、高眼圧症の治療に有用であることを示している。

【0014】 ROCK阻害作用を有する化合物は、経口でも、非経口でも投与することができる。投与剤型としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、注射剤、点眼剤等が挙げられ、特に点眼剤が好ましい。これらは乳化されている技術を用いて製剤化ができる。例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤等の経口剤であれば、乳糖、結晶セルロース、デンプン、植物油等の増粘剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑潤剤、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルビロリドン等の結合剤、カルボキシメチルセルロース、カルシウム、低置換ヒドロキシプロピルメチルセルロース等の崩壊剤、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、マクロゴール、シリコン樹脂等のコーティング剤、ゼラチン皮膜等の皮膜剤などを必要に応じて用いて調製することができる。点眼剤であれば、塩化ナトリウム、濃グリセリン等の等張化剤、リノ酸ナトリウム、酢酸ナトリウム等の緩衝化剤、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレート、ステアリン酸ポリオキシル40、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等の界面活性剤、クエン酸ナトリウム、エデト酸ナトリウム等の安定化剤、塩化ベンザルコニウム、パラベン等の防腐剤等を必要に応じて用い調製

40 することができる。pHは眼科製剤に許容される範囲内₅₀ することができる。pHは眼科製剤に許容される範囲内

にあればよいか、4~8の範囲が好ましい。また、眼軟膏であれば白色ワセリン、液体パラフィン等の潤滑される基剤を用いて調製することができる。

【0015】投与量は症状、年令、剤型等によって適宜選択できるが、点眼剤であれば0.0001~5% (w/v)、好ましくは0.001~3% (w/v)、特に好ましくは0.001~1% (w/v) のものを1目1~数回点眼すればよい。また、経口剤であれば通常1日当たり0.1~5000mg、好ましくは1~10000mg*

1) カプセル剤

处方 (150mg中)

ROCK阻害剤

乳糖

5.0mg

145.0mg

【0019】化合物と乳糖の混合比を変えることにより、本発明化合物の成分量が10.0mg/カプセル、30.0mg/カプセル、50.0mg/カプセル、1%

2) 点眼剤 (10ml中)

ROCK阻害剤

1mg

濃グリセリン

250mg

ポリソルベート80

200mg

リン酸二水素ナトリウム二水和物

適量

1N水酸化ナトリウム

適量

1N塩酸

適量

滅菌精製水

【0021】ROCK阻害剤および添加物の量を適宜変更することにより、ROCK阻害剤の濃度が、0.001%、0.001%、0.005%、0.05%、★

3) 注射剤 (100ml中)

ROCK阻害剤

10.0~100.0mg

生理食塩水

適量

【0023】 [薬理試験]

1) ROCK阻害効果試験

被験化合物のROCK阻害効果を確認するため、Eur. J. Pharmacol., 27, 321~324 (1984) やび Nature, 38

9, 990~994 (1997) の方法に準じ、ウサギ胸部大動脈切片の塩酸フェニレフリン (ROCKの活性化剤) 添加時に認められる収縮に対する被験化合物の影響について検討を行った。なお、ROCK阻害効果の指標は、塩酸フェニレフリンによる収縮を100%とし、その50%を弛緩させる被験化合物濃度 (IC₅₀) で表わした。

【0024】 (被験化合物溶液の調製) 被験化合物を生理食塩水に溶解し、2×10⁻³ Mの溶液を調製する。尚、被験化合物が生理食塩水に溶解しにくい場合、微量 (1%程度) のジメチルホルキドを添加する。

【0025】 (塩酸フェニレフリン溶液の調製) 塩酸フェニレフリンを生理食塩水に溶解し、2×10⁻³ Mの溶液を調製する。

【0026】 (実験方法および測定)

1. 日本白色ウサギ (体重3.0~4.0kg) に過剰薰のネンプタール注射液を耳静脈内投与し、ウサギを麻

* gを1回または数回に分けて投与すればよい。

【0016】以下に、製剤例および薬理試験の結果を示すが、これらの実施例は本発明をよりよく理解するためのものであり、本発明の範囲を限定するものではない。

【0017】

【実施例】 [製剤例] 本発明の経口剤、点眼剤および注射剤の一般的な調製例を以下に示す。

【0018】

※0.0.0mg/カプセルのカプセル剤も調製できる。

【0020】

★0.1%、0.5%、1.0%、3.0%、5.0% (w/v) である点眼剤も調製できる。

【0022】

醉死させ、直ちに胸部大動脈を摘出した。

【0027】 2. 摘出した胸部大動脈を、その余分な結合組織および脂肪を剥離した後、幅2~3mmの短冊状切片とした。

【0028】 3. 短冊状切片を予め37℃に加温し、9.5%炭酸/5%二酸化炭素の混合ガスを通氣したクレブスヘンゼンライト溶液 (塩化ナトリウム1.8mM; 塩化カリウム4.7mM; 塩化カルシウム2.5mM; 硫酸マグネシウム1.4mM; 塩酸水素ナトリウム2.0mM; リン酸二水素カリウム1.2mM; グルコース1.1mM) 中に懸垂した。

【0029】 4. 短冊状切片の張力を、等尺性トランステューサー (日本光電) を用いて測定した。

【0030】 5. 短冊状切片に静止張力1.0gを負荷し、これを1時間以上平衡化させた後、2×10⁻³ M塩酸フェニレフリン溶液 (最終濃度10⁻⁶ M) で短冊状切片を収縮させた。

【0031】 6. 収縮反応が安定したところで被験化合物溶液を累積的に添加した。

【0032】 7. 被験化合物により弛緩反応が生じたこ

とは、 10^{-6} M塩酸フェニレフリン投与で 100% とし、その 50% を弛緩させる被験化合物濃度を $1C_{50}$ として算出して、示した。

【0033】(結果および考察) 上記被験化合物の例として、エタクリン酸(被験化合物A)、4-(2-(2, 3, 4, 5, 6-ベンタフルオロフェニル)アクリロイル)桂皮酸(被験化合物B)または(+)-トランヌ-4-(1-アミノエチル)-1-(4-ビリジカルバモイル)シクロヘキサン(被験化合物C)を用いた場合のROCK阻害効果を表1に示す。

【0034】

【表1】

被験化合物	$1C_{50}$ (M)
被験化合物A	7.4×10^{-5}
被験化合物B	5.2×10^{-5}
被験化合物C	2.5×10^{-6}

【0035】表1に示したように、被験化合物A、被験化合物Bおよび被験化合物CがROCK阻害作用を有することが認められた。

*

	被験化合物溶液濃度 (M)	眼圧下降値 (mmHg)
被験化合物A投与群	10^{-3}	-0.6
被験化合物B投与群	10^{-3}	-0.8
被験化合物C投与群	10^{-4}	-2.0

【0044】表2に示したように、ROCK阻害作用を有する被験化合物A、被験化合物Bおよび被験化合物C投与群において、それぞれ眼圧下降効果が認められた。上記のことから、ROCK阻害作用を有する被験化合物が、眼圧下降効果を有していることが明らかとなった。

【0045】

*【0036】2) 眼圧下降効果試験

ROCK阻害作用を有する化合物の眼圧下降剤としての有用性を調べるために、正常日本白色ウサギの前房に該化合物を投与し、眼圧に対する作用を検討した。

【0037】**《被験化合物溶液の調製》**被験化合物を生理食塩水に溶解し、 10^{-4} Mおよび 10^{-3} Mの溶液を調製する。

【0038】**《投与方法および測定方法》**

1. 正常日本白色ウサギの両眼に 0.4% 塩酸オキシブ

10 口カイン点眼液を一滴ずつ点眼し局所麻酔した後、眼圧を測定した。

【0039】2. 次いで、30G針の注射器を用い、片眼に被験化合物溶液($20\mu\text{l}$)を、もう一方の眼に生理食塩水($20\mu\text{l}$)を前房内投与した。

【0040】3. 被験化合物溶液投与4時間後、両眼に 0.4% 塩酸オキシブロカイン点眼液を一滴ずつ点眼し局所麻酔した後、眼圧を測定した。

【0041】4. 被験化合物溶液投与眼と生理食塩水投与眼との眼圧の差を算出し、眼圧下降値とした。

20 【0042】(結果および考察) 実験結果の一例として、被験化合物溶液投与4時間後の眼圧下降値を表2に示す。

【0043】

【表2】

【発明の効果】上述の如く、ROCK阻害作用を有する化合物は眼圧下降効果を有しており、緑内障や高眼圧症などの眼圧上昇を伴う眼疾患の治療剤として有用であることが認められた。よって、本発明により、ROCK阻害作用を有する化合物を有効成分とする眼圧下降剤が提供される。

40

フロントページの続き

(72)発明者 中島 正

奈良県生駒市高山町8916番-16 参天製薬

株式会社奈良R Dセンター内

F ターム(参考) 4C084 AA17 NA14 ZA332 ZC202

Machine translation of Citation 8 obtained from JPO web site

(11)Publication number : **2000-336042**
(43)Date of publication of application : **05.12.2000**

(51)Int.Cl. **A61K 45/00**

A61P 27/06

A61P 43/00

(21)Application number : **2000-086446** (71)Applicant : **SANTEN PHARMACEUT CO LTD**
(22)Date of filing : **27.03.2000** (72)Inventor : **NAKADA KATSUHIKO
KAGEYAMA MASAAKI
NAKAJIMA TADASHI**

(30)Priority

Priority number : **11081645** Priority date : **25.03.1999** Priority country : **JP**

(54) **OCULAR TENSION DEPRESSANT**

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject ocular tension depressant that is useful as a therapeutic agent for treat eye diseases accompanied by increased tension, for example, glaucoma or ocular hypertension.

SOLUTION: This ocular tension depressant includes a compound having ROCK (serine/threonine kinase-inhibitory action activated by activation of Rho), typically ethacrynic acid, as an active ingredient. The compound is preferably dosed in the form of an eye drop or an injection solution. In one embodiment, the eye drop is prepared by using an isotonizing agent, a buffer solution, a surfactant, a stabilizer, a preservative and the like so that the pH is adjusted to 4-8. In the case of the eye drop, the daily dose is preferably 0.0001-5 w/v% in one-several portions. The activity of the ROCK inhibitory action is independent from its chemical structure.

[Claim(s)]

[Claim 1]An ocular tension depressant which makes an active principle a compound which has ROCK inhibitory action.

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention]This invention relates to the ocular tension depressant which makes an active principle the compound which has ROCK inhibitory action.

[0002]

[Description of the Prior Art]Glaucoma is an intractable eye disease with the danger of intraocular pressure going up by various factors, and resulting in loss of eyesight, and research is made about various therapeutic methods.

[0003]On the other hand, Rho which is low-molecular-weight GTP joint protein attracts attention as a physiological active substance these days, As a result of inquiring about the function, Rho is activated in response to a signal from various cell membrane receptors, Activated Rho became clear [functioning via an actomyosin system as a molecular switch of variegated cell phenomena, such as smooth muscle contraction, cell movement, cell adhesion, a shape change of a cell, and cell growth,].

[0004]ROCK (Rho-associated coiled-coil forming protein kinase), By being identified as the serine / threonine kinase which this activated Rho combines, functioning downstream from Rho, and phosphorylating various substrates, Controlling variegated physiological functions, such as a stress fiber, macula adherens formation and smooth muscle contraction, and regression of a nerve axon, is reported (a cell technology, 17, and 1844-1855 (1998)). It is performed by the research on the drug which checks this ROCK, and ROCK inhibitor, The disease and the phenomenon, for example, hypertension, which Rho involves, angina pectoris, a cerebrovascular spasm, What is expected as prevention effective in alimentary canal infection of asthma, peripheral circulatory disturbance, a premature delivery, arteriosclerosis, cancer, inflammation, immunopathy, ADIS, fertilization and implantation of a fertilized egg, osteoporosis, a retinopathy, cerebral dysfunction, and bacteria and/or a treating agent is indicated by WO98/06433.

[0005]However, there is no report about the relation between ROCK, an eye disease, especially glaucoma.

[0006]

[Problem to be solved by the invention]As mentioned above, the relation between ROCK

and an eye disease is not yet solved in detail, but the research in the ophthalmologic field of ROCK is very interesting problem.

[0007]

[Means for solving problem] Then, when this invention persons inquired wholeheartedly about the relation between ROCK and intraocular pressure, and ROCK was checked, they found out that intraocular pressure descended. That is, the compound which has ROCK inhibitory action dropped intraocular pressure, and found out that it was useful as a treating agent of the eye disease accompanied by increased intraocular pressure, such as glaucoma and ocular hypertension.

[0008]

[Mode for carrying out the invention] This invention relates to an ocular tension depressant which makes an active principle a compound which has ROCK inhibitory action.

[0009] ROCK of this invention means the serine / threonine kinase activated with activation of Rho.

[0010] As a compound which has the ROCK inhibitory action in this invention, There are a vinylbenzene derivative, a cinnamic acid derivative, a compound currently indicated by WO98/06433, etc., Although there is no restriction in particular on chemical structure, as an example, ethacrynic acid, 4-[2-(2,3,4,5,6-pentafluorophenyl) acryloyl] cinnamic acid, (+)-transformer 4-(1-aminoethyl)-1-(4-pyridyl carbamoyl) cyclohexane, etc. are mentioned.

[0011] Although a clause of the below-mentioned pharmacological test explains an effect of this invention in detail, About a compound which has various chemical structure first, existence of ROCK inhibitory action was investigated and it ranked second, and when a compound in which ROCK inhibitory action was shown was prescribed for the patient into anterior sac of a normal Japan white rabbit, a compound which has such ROCK inhibitory action found out that the intraocular pressure downward effect was shown.

[0012] A place which found out that chemical structure showed the intraocular pressure downward effect regardless of a compound in which this invention has ROCK inhibitory action has the feature, and strength of the intraocular pressure downward effect does not affect the usefulness of this invention.

[0013] As for this test result, the compound which has ROCK inhibitory action shows that it is a therapy of the eye disease accompanying the rise of intraocular pressure, and that it is useful for the therapy of glaucoma and ocular hypertension especially.

[0014] Even if the compound which has ROCK inhibitory action is parenteral, it can also prescribe taking orally for the patient. As an administration pharmaceutical form, a tablet,

a capsule, a granule, powder medicine, injections, ophthalmic solutions, etc. are mentioned, and especially ophthalmic solutions and injections are preferred. These can be pharmaceutical-preparation-ized using the technology currently used widely. If it is oral agents, such as a tablet, a capsule, a granule, and powder medicine, for example, milk sugar, Extenders, such as crystalline cellulose, starch, and vegetable oil, magnesium stearate, Binding materials, such as lubricant, such as talc, hydroxypropylecellulose, and a polyvinyl pyrrolidone, Carboxymethyl cellulose Film forming agents, such as coating agents, such as disintegrator, such as calcium and low substitution hydroxypropylmethylcellulose, hydroxypropylmethylcellulose, macrogol, and silicon resin, and a gelatin coat, etc. can be used and prepared if needed. If it is ophthalmic solutions, isotonizing agents, such as sodium chloride and concentrated glycerin, sodium phosphate, Buffer agents, such as sodium acetate, polyoxyethylene sorbitan mono- olate, Antiseptics, such as stabilizing agents, such as surface-active agents, such as polyoxyl 40 stearate and polyoxyethylene hydrogenated castor oil, sodium acid citrate, and disodium edetate, a benzalkonium chloride, and paraben, etc. can be used and prepared if needed. Although there should just be pH within limits permitted by ophthalmology pharmaceutical preparation, the range of 4-8 is preferred. If it is an ophthalmic ointment, it can prepare using bases used widely, such as white vaseline and a liquid paraffin.

[0015]What is necessary is just to apply eyewash 1 to several times per day in 0.001 to 1% (w/v) of thing preferably especially 0.001 to 3% (w/v) 0.0001 to 5% (w/v), if it is ophthalmic solutions although a dose can be suitably chosen by condition, age, a pharmaceutical form, etc. What is necessary is just to usually prescribe preferably 1-1000 mg of 0.1-5000 mg [per day] for the patient in 1 time or several steps, if it is an oral agent.

[0016]Although a result of an example of pharmaceutical preparation and a pharmacological test is shown below, these working examples are for understanding this invention better, and do not limit the range of this invention.

[0017]

[Working example][An example of pharmaceutical preparation] A general example of pharmaceutical preparation of an oral agent of this invention, ophthalmic solutions, and injections is shown below.

[0018]

1) A capsule A formula (inside of 150 mg)

ROCK inhibitor 5.0 mg Milk sugar 145.0 mg [0019] By changing the mixture ratio of a compound and milk sugar, a component amount of this invention compound can also

prepare a capsule of 10.0 mg / capsule, 30.0 mg / capsule, 50.0 mg / capsule, and 100.0 mg / capsule.

[0020]

2) Ophthalmic solutions (inside of 10 ml)

ROCK inhibitor 1mg concentrated glycerin 250mg polysorbate 80 200mg sodium-dihydrogenphosphate dihydrate Optimum dose 1N sodium hydroxide Optimum dose 1N chloride Optimum dose Sterile purified water [0021] By changing quantity of ROCK inhibitor and an additive suitably, concentration of ROCK inhibitor can also prepare ophthalmic solutions which are 0.0001%, 0.001%, 0.005%, 0.05%, 0.1%, 0.5%, 1.0%, 3.0%, and 5.0% (w/v).

[0022]

3) Injections (inside of 100 ml)

ROCK inhibitor 10.0-100.0 mg A physiological saline Optimum dose [0023] [A pharmacological test]

1) In order to check the ROCK inhibition effect of the ROCK inhibition effect examination test compound, It applies to the method of Eur. J. Pharmacol., 97, 321-324 and (1984) Nature, 389, and 990-994 (1997) correspondingly, The influence of a test compound on the contraction accepted at the time of phenylephrine hydrochloride (activator of ROCK) addition of a rabbit thorax main artery section was considered. The index of the ROCK inhibition effect made contraction by phenylephrine hydrochloride 100%, and expressed it with the test compound concentration (IC₅₀) which loosens the 50%.

[0024](Preparation of a test compound solution) A test compound is dissolved in a physiological saline and the solution of 2×10^{-3} M is prepared. When it is hard to dissolve a test compound in a physiological saline, a small amount of (about 1%) dimethyl sulfoxide is added.

[0025](Preparation of a phenylephrine hydrochloride solution) Phenylephrine hydrochloride is dissolved in a physiological saline and the solution of 2×10^{-3} M is prepared.

[0026](An experimental method and measurement)

1. Ear intravenous administration of an excessive amount of Nembutal parenteral solutions was carried out, anesthesia fatality of the rabbit was carried out to the Japanese white rabbit (weight of 3.0-4.0 kg), and the thorax main artery was extracted promptly.

[0027]2. The extracted thorax main artery was used as the 2-3-mm-wide strip-of-paper-like section after exfoliating the excessive connective tissue and fat.

[0028]3. A strip-of-paper-like section is beforehand warmed at 37 **, Mixed gas of 95%

oxygen / 5% carbon dioxide. It hung in the aerated Krebs HENZEN light solution (sodium chloride 118mM; potassium chloride 4.7mM; calcium chloride 2.5mM; magnesium sulfate 1.4mM; sodium bicarbonate 20mM; potassium-dihydrogen-phosphate 1.2mM; glucose 11mM).

[0029]4. Tension of a strip-of-paper-like section was measured using an isometric transducer (Nihon Kohden).

[0030]5. After carrying out load of the resting tension of 1.0 g to a strip-of-paper-like section and making this equilibrate for 1 hour or more, a strip-of-paper-like section was shrunk with a 2×10^{-3} M phenylephrine hydrochloride solution (last concentration 10^{-6} M).

[0031]6. A test compound solution was added cumulatively in a place in which a contraction reaction was stabilized.

[0032]7. That relaxation response arose by a test compound made 100% 10^{-6} M phenylephrine hydrochloride contraction, and it computed as IC₅₀ test compound concentration which loosens the 50%, and showed it.

[0033](A result and consideration) As an example of the above-mentioned test compound, ethacrynic acid (the test compound A), The ROCK inhibition effect at the time of using 4-[2-(2,3,4,5,6-pentafluorophenyl) acryloyl] cinnamic acid (the test compound B) or (+)-transformer 4-(1-aminoethyl)-1-(4-pyridyl carbamoyl) cyclohexane (the test compound C) is shown in Table 1.

[0034]

[Table 1]

[0035] As shown in Table 1, it was accepted that the test compound A, the test compound B, and the test compound C have ROCK inhibitory action.

[0036] 2) In order to investigate the usefulness as an ocular tension depressant of the compound which has intraocular pressure downward effect examination ROCK inhibitory action, the anterior sac of the normal Japan white rabbit was medicated with this compound, and the operation on intraocular pressure was considered.

[0037](Preparation of a test compound solution) A test compound is dissolved in a physiological saline and the solution of 10^{-4} M and 10^{-3} M is prepared.

[0038](A medication method and a measuring method)

1. Intraocular pressure was measured, after one drop's having applied eyewash at a time in the both eyes of the normal Japan white rabbit and carrying out the local anesthesia of the 0.4% chloride oxyprocaine eye lotions to them.

[0039]2. It ranked second, and using the injector of 30G stitch, the one eye was medicated

with the test compound solution (20microl), and another eye was medicated with the physiological saline (20microl) in anterior sac.

[0040]3. 4 hours after test compound solution administration, intraocular pressure was measured, after one drop's having applied eyewash at a time in both eyes and carrying out the local anesthesia of the 0.4% chloride oxyprocaine eye lotions to them.

[0041]4. The difference of the intraocular pressure of a test compound solution administration eye and a physiological saline administration eye was computed, and it was considered as the intraocular pressure downward value.

[0042](A result and consideration) As an example of an experimental result, the intraocular pressure downward value 4 hours after test compound solution administration is shown in Table 2.

[0043]

[Table 2]

[0044] As shown in Table 2, in the test compound A, the test compound B, and test compound C administration group which have ROCK inhibitory action, the intraocular pressure downward effect was accepted, respectively. The test compound which has ROCK inhibitory action became clear [having the intraocular pressure downward effect] from the above-mentioned thing.

[0045]

[Effect of the Invention] Like *****, the compound which has ROCK inhibitory action has the intraocular pressure downward effect, and having been useful as a treating agent of the eye disease accompanied by increased intraocular pressure, such as glaucoma and ocular hypertension, was admitted. Therefore, the ocular tension depressant which makes an active principle the compound which has ROCK inhibitory action by this invention is provided.